

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета

на диссертацию **Кузнецовой Ксении Андреевны**

на тему: «Система **WOX-CLAVATA** и ее мишени в регуляции развития запасающего корня и спонтанных опухолей у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)», представленную на соискание

ученой степени **кандидата биологических наук**

по научной специальности **1.5.7. Генетика**

### **Актуальность избранной темы**

Формирование запасающего корня – это процесс, понимание механизмов которого важно не только с теоретической, но и с практической точки зрения, поскольку открывает новые возможности для селекции корнеплодных культур. В его основе лежит работа генов, контролирующей активность латеральной меристемы – камбия. Изучение механизмов генетического контроля камбия, в настоящее время идет активными темпами. Одним из важнейших регуляторов активности камбия является система **WOX-CLAVATA**. Она включает в себя короткие пептиды семейства **CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-related (CLE)**, обладающие функцией гормонов; их рецепторы; а также мишени – гены, кодирующие гомеодомен-содержащие транскрипционные факторы семейства **WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN (WOX)**. Объект данного исследования – редис посевной (*Raphanus sativus* L.) – крестоцветное растение, родственное арабидопсису, – является удобной моделью для изучения механизмов, лежащих в основе формирования корнеплода ксилемного типа.

Исходя из вышесказанного актуальность диссертации не вызывает сомнения.

### **Научная новизна и практическая значимость работы**

В работе Кузнецовой К.А. в рамках изучения регуляции развития запасающего корня и спонтанных опухолей у редиса впервые были получены сборки геномов родственных опухолеобразующей и безопухолевой линий редиса. При сравнении геномов этих линий впервые были выявлены мутации, приводящие к потере функции генов, которые следует в дальнейшем изучать с точки зрения их вовлеченности в контроль изучаемого признака. В полученных сборках геномов были идентифицированы гены-регуляторы развития меристем, в том числе меристем запасающего корня (гены семейств **WOX** и **CLE**). В рамках изучения функций некоторых из этих генов впервые был проведен транскриптомный анализ растений со сверхэкспрессией гена **RsCLE41-1**, выявлена мишень транскрипционного фактора **RsWOX4** – ген **RsLOG3**, участвующий в контроле биосинтеза цитокининов. Таким образом, работа Кузнецовой Ксении Андреевны внесла заметный вклад в понимание механизмов генетического контроля формирования запасающего корня.

## Основное содержание

Диссертационная работа изложена на 203 страницах и состоит из введения, четырех разделов, выводов, списка литературы из 585 наименований, благодарностей, приложения. Работа содержит 40 рисунков и 7 таблиц.

В первой главе, представляющей собой ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ, автор описывает современные представления о латеральных меристемах высших растений, факторах, влияющих на формирование запасающего корня, знакомит читателя с объектом своего исследования – редисом посевным, приводит основные сведения о разнообразии опухолей растений.

Во второй главе представлены МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ исследования, включающие как культивирование растений, так и разнообразные методы молекулярной генетики, геномной инженерии, биоинформатики.

В третьей главе представлены РЕЗУЛЬТАТЫ исследования, включающие сборку и анализ геномов двух линий генетической коллекции редиса, контрастных по способности к опухолеобразованию, идентификацию и анализ последовательностей генов *RsWOX* и *RsCLE*, изучение механизмов влияния генов *RsWOX4*, *RsWOX14* и *RsCLE41* на развитие корнеплода.

В четвертой главе приводится ОБСУЖДЕНИЕ результатов исследования.

Поражает огромный объем проделанной диссертантом работы. Только данных секвенирования геномов линий редиса и их подробного анализа было бы достаточно для кандидатской диссертации. В представленной работе помимо геномных данных есть еще много интересных результатов исследования функций генов системы *WOX-CLAVATA*.

К работе имеются следующие **вопросы и замечания**:

1. Первое замечание касается формулировки двух положений, выносимых на защиту: «... Гены *RsWOX4-1* и 2, *RsWOX14*, *RsCLE41-1*, 2, и 3, *RsCLE42-1* и 2 предположительно участвуют в контроле активности камбия... Выявлены новые предполагаемые мишени сигнального пептида *RsCLE41* и транскрипционного фактора *RsWOX4*». Защита предположений выглядит странно.
2. В обзоре литературы было бы уместно акцентировать внимание на том, что корнеплоды бывают монокамбиальные (флоэмного или ксилемного типа) и поликамбиальные. В данной работе изучали контроль развития монокамбиального корнеплода ксилемного типа. Соответственно экстраполировать полученные данные на все типы корнеплодов (как утверждается в диссертации) представляется довольно смелым шагом.
3. В разделе обзора литературы, посвященном разнообразию опухолей растений приведены устаревшие сведения о функции онкогенов *Rhizobium (Agrobacterium)*

*rhizogenes*, что привело к необоснованным обобщениям в части механизмов неопластического роста, вызванного агробактериями.

4. В работе выявлены различия на нуклеотидном уровне, приводящие к потере функции у целого ряда генов в опухолеобразующей линии 19 по сравнению с линией дикого типа. Из текста диссертации не понятно, оценивали ли полиморфизм по этим мутациям внутри линии.
5. Не понятно, почему в других опухолеобразующих линиях ожидали увидеть те же мутации, если коллекция берет начало от единичных растений РАЗЛИЧНЫХ сортов? Даже при условии вовлеченности в процесс каких-то из найденных генов в других неродственных линиях мутации могли оказаться в другой позиции.
6. Работа, на которую ссылается автор, говоря о моногенном наследовании признака «способность к опухолеобразованию», была опубликована более 20 лет назад. В ней утверждается, что в некоторых скрещиваниях наследование не противоречит моногенной схеме. На самом деле, многие расщепления в полигибридных скрещиваниях трудно статистически отличить от 3:1. С времен статьи 2004 года появилось много данных и новых методов, которые могли бы позволить картировать ген, если он один, или понять, что их несколько. Это следовало бы сделать в ближайшем будущем. В настоящий момент нет оснований искать единственный ген, отвечающий за индукцию опухолевого роста.
7. Из текста работы следует, что гомологи *RsWOX4-1* и *RsWOX4-2* характеризуются высоким сходством, аналогично *RsCLE41-1* и *RsCLE41-2*, тем не менее изучен в работе один из гомологов, и всякий раз его выбор из текста не очевиден.
8. Текст не лишен небрежных формулировок, искажающих его смысл. Например, на стр. 9: «...применяли методы биоинформатики, позволяющие проводить секвенирование...», на стр. 134: «Уровень значимости оценивали с помощью t-критерия Стьюдента».

Однако, сделанные замечания не умоляют достоинств работы. Результаты этой работы будут использованы в молекулярно-генетических и биотехнологических и селекционных исследованиях.

С учетом всего вышесказанного полагаю:

Содержание диссертации **Кузнецовой Ксении Андреевны** на тему: «Система *WOX-CLAVATA* и ее мишени в регуляции развития запасяющего корня и спонтанных опухолей у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)», соответствует специальности 1.5.7. Генетика.

Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития генетики и селекции растений. Работа

имеет огромное значение для фундаментальной и прикладной науки. Ее результаты по достоинству оценены научным сообществом. Обоснованность научных положений и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений. Основные результаты работы представлены в виде докладов на 6 международных конференциях и 6 научных статей в престижных журналах, индексируемых Wos и Scopus,

Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук соискателем ученой степени мною не установлено.

Диссертация соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, установленным приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете» и рекомендована к защите в СПбГУ.

Член диссертационного совета  
Доктор биологических наук,  
доцент,  
профессор кафедры генетики и  
биотехнологии биологического  
факультета  
Санкт-Петербургского  
государственного университета

Татьяна Валерьевна Матвеева



19.01.2025